

01 APR 2005

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. April 2004 (22.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/032943 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/728**,
A61P 19/02

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/010822

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. September 2003 (30.09.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 46 340.9 4. Oktober 2002 (04.10.2002) DE

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: WOHLRAB, David [DE/DE]; Mörikestrasse
13, 06118 Halle (DE).

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR;
Mozarstrasse 17, 80336 München (DE).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: COMBINATION PREPARATION OF HYALURONIC ACID AND AT LEAST ONE LOCAL ANESTHETIC AND THE USE THEREOF

(54) Bezeichnung: KOMBINATIONSPRÄPARAT AUS HYALURONSÄURE UND MINDESTENS EINEM, LOKALANÄSTHETIKUM UND DESSEN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a combination preparation comprising an active substance A selected among the group that consists of hyaluronic acid and the salts and fragments thereof, at least one active substance B selected among the group of local anesthetics and the derivatives thereof, and other optional additives. Said combination preparations are used for the medical treatment of degenerative and traumatic diseases of all joints, the treatment of articular cartilage damages and cartilage bone damages, lesions of a meniscus or an intervertebral disk such as arthrosis, articular rheumatism, osteochondrolysis, flake fractures, and meniscus lesions, and the treatment of skin modifications or mucosal modifications, also according to cosmetic aspects.

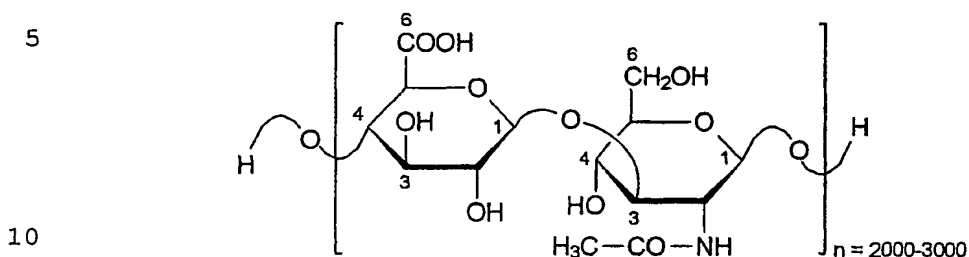
(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Kombinationspräparat bestehend aus einem Wirkstoff A aus der Gruppe Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukten, mindestens einem Wirkstoff B aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten sowie gegebenenfalls weiteren Zusatzstoffen. Diese Kombinationspräparate finden Verwendung für die medizinische Behandlung von degenerativen und traumatischen Erkrankungen aller Gelenke, zur Behandlung von Gelenkknorpel- und Knorpelknochen defekten sowie Meniskus- und Bandscheibenläsionen wie z.B. Arthrose, Gelenkrheumatismus, Osteochondrosis dissecans, flake fractures, Meniskusläsionen sowie zur Behandlung von Haut- bzw. Schleimhautveränderungen auch unter kosmetischen Gesichtspunkten.

WO 2004/032943 A1

Kombinationspräparat aus Hyaluronsäure und mindestens
einem Lokalanästhetikum und dessen Verwendung

5 Die Erfindung betrifft ein Kombinationspräparat bestehend aus einem Wirkstoff A aus der Gruppe Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukten, mindestens
einem Wirkstoff B aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten sowie gegebenenfalls weiteren Zusatzstoffen. Diese Kombinationspräparate finden Ver-
10 wendung für die medizinische Behandlung von degenerativen und traumatischen Erkrankungen aller Gelenke, zur Behandlung von Gelenkknorpel- und Knorpelknochen-
defekten sowie Meniskus- und Bandscheibenläsionen wie z.B. Arthrose, Gelenkrheumatismus, Osteochondrosis
15 dissecans, flake fractures, Meniskusläsionen sowie zur Behandlung von Haut- bzw. Schleimhautveränderungen auch unter kosmetischen Gesichtspunkten.

Der chemische Name für Hyaluronsäure ist Hyaluronan.
Seine chemische Struktur entspricht der Formel



Ungeachtet der positiven klinischen Erfahrungen mit
hochmolekularer Hyaluronsäure bzw. deren Salzen (Mo-
masse $> 1 \times 10^6$ Dalton) ist die Kenntnis über den Wirk-
mechanismus unvollständig. Der bisherige Wissensstand
weist intraartikulär applizierte Hyaluronsäure als
ein Schmier- und Gleitmittel aus (A. Lussier et al.
(1996); J Rheumatol. 23, 1579-1585; D. Scale et
al. (1994); Current Therapeutic Research. 55, 220-232;
M. Wobig et al. (1998) Clinical Therapeutics. 20,
410-423). Des Weiteren wurde nachgewiesen, daß Hyalu-
ronsäure intraartikulär entzündungshemmende Eigen-
schaften besitzt (K.W.Marshall (1997) Today's Thera-
peutic Trends. 15, 99-108; K.W.Marshall (2000) Curr.
Opin.Rheumatol. 12, 468-474).

Die Arthrose beginnt mit einer initialen Schädigung
des Knorpelgewebes aufgrund verschiedener Ursachen.
Dies hat eine reaktive Synovialitis zur Folge, welche
ihrerseits sowohl pathologische Veränderungen der Sy-
novialflüssigkeit, d.h. Abnahme der Konzentration und
des Molekulargewichtes der Hyaluronsäure, sowie die
Freisetzung von Entzündungsmediatoren bewirkt. Dies
führt zu einer sekundären Knorpelschädigung und damit
letztendlich zur Arthrose, welche neben dem Knorpel-

gewebe auch alle anderen Gelenkstrukturen betrifft
(J.P.Pelletier et al. (1993) J Rheumatol. 20, 19-24).

5 Es ist bekannt, daß intraartikulär applizierte Hyalu-
ronsäure zur Verbesserung der Gelenkbeweglichkeit,
zur Schmerzreduktion, zur Hemmung der Entzündungspro-
zesse und unter in vitro Bedingungen zur Steigerung
der Chondrozyten-Proliferation führt (K.Kawasaki et
al. (1999) Cell Physiol. 179, 142-148; D. Wohlrab et
10 al. (2000) hylan news. 2; 2-5).

Ausgehend hiervon war es Aufgabe der vorliegenden Er-
findung, ein Kombinationspräparat bereitzustellen,
daß in vielfältiger Form applizierbar ist und bei dem
15 die Wirkstoffe gezielt retardiert freigesetzt werden
können.

Diese Aufgabe wird durch das Kombinationspräparat mit
den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Die Verwendung
20 des Kombinationspräparats wird in Anspruch 15 be-
schrieben. Die weiteren abhängigen Ansprüche zeigen
vorteilhafte Weiterbildungen auf.

Erfindungsgemäß wird ein Kombinationspräparat bereit
25 gestellt, daß aus einem Wirkstoff A aus der Gruppe
Hyaluronsäure, deren physiologischen Salzen und
Spaltprodukten, mindestens einem Wirkstoff B aus der
Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten sowie
gegebenenfalls weiteren Zusatzstoffen besteht.

30 Es wurde festgestellt, daß durch die erhebliche Mole-
külgröße der Hyaluronsäure ($1-6 \times 10^6$ Da) diese mehr-
fach gespalten werden muss; bevor sie den intraarti-
kulären Raum verlassen und abgebaut bzw. in Knorpel-
35 gewebe eingebaut werden kann. Diese Spaltungsprozesse
nehmen in Abhängigkeit von der Molmasse der Hyaluron-

säure Stunden bis mehrere Tage in Anspruch.

5 Aufgrund dieser im Vergleich zu anderen niedermolekularen Substanzen, wie es z.B. Lokalanästhetika sind, verlängerten intraartikulären Verweildauer eignet sich hochmolekulare Hyaluronsäure, deren Salze oder Spaltprodukte als Träger für Substanzen, welche ohne derartige Bindung an ein Trägermolekül eine deutlich verkürzte intraartikuläre Verweildauer und damit eine
10 sehr kurze Wirkdauer aufweisen.

Als galenische Formulierung kommen sämtliche aus dem Stand der Technik bekannten Formulierungen in Frage. Hierzu zählen insbesondere intraartikulär, intradiscal, subcutan, intracutan oder topisch anwendbare galenische Formulierungen.
15

Vorzugsweise werden als Wirkstoff A Verbindungen aus der Gruppe Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukte und als Wirkstoff B Verbindungen aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten Verbindungen gewählt, die untereinander eine chemische oder physikalische Bindung aufweisen, wobei der Wirkstoff B retardiert freisetzbar ist. Der pH-Wert der Formulierung ermöglicht dabei eine optimale Bindung zwischen den beiden Wirkstoffen und die Freigabe des Wirkstoffes B kann über die Veränderung des pH-Wertes des Umgebungsmediums gesteuert werden.
20
25

Vorzugsweise ist der Wirkstoff A in dem Kombinationspräparat in einer Konzentration zwischen 0,001 und 5 Gew.-% oder bevorzugt zwischen 0,2 und 2,0 Gew.-% enthalten. Der Wirkstoff B ist vorzugsweise in einer Konzentration zwischen 0,001 und 20 Gew.-%, bevorzugt zwischen 0,001 und 5,0 Gew.-% enthalten.
30
35 Weiterhin können in dem Kombinationspräparat weitere

Zusatzstoffe enthalten sein. Hierzu zählen beispielsweise Substanzen mit Radikalfänger-Eigenschaften, insbesondere Tocopherolderivate oder Ascorbinsäurederivate. Des Weiteren können Substanzen des hyalinen Knorpelgewebes eingesetzt werden, insbesondere Glucosaminsulfatderivate oder Chondroitinsulfatderivate. Weiterhin können Substanzen mit steroidaler und corticosteroidaler Wirkung eingesetzt werden, insbesondere Glucocorticoide. Als Zusatzstoffe kommen weiterhin nicht-steroidale Antiphlogistika, die auch als Anti-Rheumatika bezeichnet werden, insbesondere Indometacin, Dichlorphenac oder Salicylsäurederivate und Analgetica, insbesondere Oxicame, Anilin- oder Anthranilsäurederivate in Frage. Das Kombinationspräparat kann als Zusatzstoff ebenfalls Substanzen mit hemmender Wirkung auf die Prostaglandinsynthese, insbesondere Lipxygenase-Hemmer, Cyclooxygenase-Hemmer und Phospholipase-A2-Hemmer. Ebenso kommen als Zusatzstoffe Wachstumsfaktoren, insbesondere Retinol oder Bone Morphogenetic Proteins (BMP's), Vitamine, insbesondere Vitamin A, C, B12 oder Biotin, Antioxidantien, insbesondere Flavonoide oder Glutathion, und Substanzen mit wasserbindenden Eigenschaften, insbesondere Harnstoff oder Arginin in Frage. Das Kombinationspräparat kann als beliebige galenische Formulierung, z.B. als Lösung, Suspension, Emulsion, Paste, Salbe, Gel, Creme, Lotion, Lack, Puder, Seife, tensidhaltiges Reinigungspräparat, Öl, Lippenstift, Lippenpflegestift, Mascara, Eyeliner, Lidschatten, Rouge, Puder-, Emulsions- oder Wachs-Makeups, Sonnenschutz-, Prä- und Aftersun-Präparate oder als Spray hergestellt werden.

Die Anwendung des Kombinationspräparats kann sowohl am Menschen als auch an Tieren erfolgen. Die erfin-

dungsgemäßen Kombinationspräparate können sowohl in der Human- und Veterinärmedizin sowie in der Kosmetik angewendet werden.

5 Die Anwendungsgebiete der Kombinationspräparate betreffen die human- und veterinärmedizinische Therapie, Prophylaxe und/oder Metaphylaxe von degenerativen oder traumatischen Gelenkerkrankungen und Gelenk-
10 funktionsstörungen, Gelenkknorpel- und Knorpelknorpelchendefekten, Meniskus- und Bandscheibenerkrankungen. Hierzu zählen beispielsweise die Steigerung der Chondrozyten-Proliferation, die Stabilisierung und/oder Regeneration von Gelenkstrukturen, insbesondere des Gelenkknorpels und der Menisci, die Steigerung der
15 Gelenkbeweglichkeit und die Hemmung von Entzündungsprozessen.

Ebenso kann das Kombinationspräparat allerdings auch zur Behandlung von Haut- oder Schleimhautveränderungen sowohl unter medizinischen wie kosmetischen Gesichtspunkten eingesetzt werden.
20

Erfindungsgemäß wird ebenso die Verwendung mindestens eines Wirkstoffes A aus der Gruppe Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukten in Kombination mit mindestens einem Wirkstoff B aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten zur Herstellung eines Arzneimittels zur human- und veterinärmedizinischen Therapie, Prophylaxe und/oder Metaphylaxe von Gelenkerkrankungen und Gelenkfunktionsstörungen beansprucht.
25
30

Die Erfindung soll anhand der folgenden Beispiele und Figuren erläutert werden, ohne sie darauf zu beschränken.
35

Beispiel 1:

Physiologische Verträglichkeit der erfindungsgemäßen
galenischen Formulierungen

5

Herstellung:

Lidocainhydrochlorid (Universitätsapotheke der Mar-
tin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) und Hyalu-
ronsäure (Aqua Biochem, Dessau) ($MG\ 1,5 \times 10^6\ Da$) lagen
10 primär in Pulverform vor. Zur Herstellung von 2%-igen
Stammlösungen wurden entsprechende Mengen in RPMI-
Medium (Seromed, Berlin) gelöst und anschließend ster-
il filtriert. Zur Herstellung eines Lidocain-Hyalu-
ronsäure-Gemisches wurden diese Stammlösungen zu
15 gleichen Teilen vermischt. Die Substanzzugabe zur
Zellkultur erfolgte am 10. Kulturtag beim Mediumwech-
sel. Hier wurden entsprechende Mengen der Testsub-
stanzen (Stammlösungen) zugegeben, so daß eine jewei-
lige Endkonzentration von $5 \times 10^{-5}\ mmol/l$ erreicht wur-
20 de.

Präparation des biologischen Materials:

Die Untersuchungen erfolgten an humanen Chondrozyten,
welche aus arthrotisch verändertem Kniegelenksknorpel
25 isoliert wurden. Das Knorpelgewebe entstammte den bei
der Implantation von Knieendoprothesen resizier-
ten femoralen Gelenkflächen. Es wurde ausschließlich
arthrotisch verändertes Knorpelgewebe von drei ver-
schiedenen Spendern ohne bekannte relevante Nebener-
30 krankungen, insbesondere ohne rheumatoide Arthritis,
verwandt.

Die intraoperativ gewonnenen Knochen-Knorpelfragmente
wurden zunächst in steriles L15 Medium (Seromed, Ber-
35 lin) als Transportmedium überführt. Anschließend er-
folgte unter sterilen Bedingungen die Ablösung des

Knorpelgewebes vom subchondralen Knochen mittels Skalpells sowie eine scharfe Durchtrennung des Gewebes in ca. 1mm³ große Stücke. Die enzymatische Isolierung der Chondrozyten aus den Knorpelstücken erfolgte mittels Pronase und Kollagenase A (Boehringer Mannheim) über eine Zeitspanne von 16 Stunden.

Versuchsbedingungen:

Die isolierten Chondrozyten wurden in 24-er well Platten in RPMI-Medium (Seromed, Berlin) unter Zusatz verschiedener Antibiotika bei 37°C und 5% Kohlendioxid im Brutschrank als Monolayerkultur kultiviert. Der Mediumwechsel erfolgte alle 2 Tage. Nach 10 Kulturtagen erfolgte letztmalig ein Mediumwechsel und hierbei die Zugabe der jeweiligen Testsubstanzen, welche im Kulturmedium gelöst wurden. Zusätzlich wurde jeweils eine unbehandelte Chondrozytenpopulation als Kontrolle mitgeführt.

Versuchsdurchführung:

Die Messung des ³H-Thymidineinbaus als Maß für die DNA-Syntheseleistung erfolgte 24, 48 bzw. 72 Stunden nach Substanzzugabe. Am Ende der Kulturdauer wurde zu der Zellkultur je well 20 µl ³H-methyl-Thymidin (spezifische Aktivität 60,3 Ci/mmol; American Radiolabeled Chemicals Inc., St. Louis, USA) zugegeben. Zwei Stunden nach ³H-Thymidinzugabe wurde das Medium aus den Kammern mit Hilfe eines Cell Harvesters (Berthold GmbH, Bad Wildbad) abgesaugt. Jede Kulturkammer wurde mit 200 µl Trypsin beschickt und nach 20 Minuten wurde die Zellsuspension über einen Filter abgesaugt. Anschließend erfolgte die Messung der Radioaktivität der Zellen im Filterpapier mit Hilfe eines Flüssigkeitsszintillationszählers (WINSPECTRAL 1414, Wallace-ADL GmbH, Freiburg, Deutschland).

Die Ergebnisse für die physiologische Verträglichkeit der erfindungsgemäßen galenischen Formulierungen sind in Fig. 1 dargestellt.

5 Fig. 1 zeigt den Einfluss von Hyaluronsäure (Hys) ($1,5 \times 10^6$ Da, 5×10^{-5} mmol/l), Lidocain (Lido) (5×10^{-5} mmol/l) und Hyaluronsäure-Lidocain-Gemisch (Hys+Lido) (je 5×10^{-5} mmol/l) auf den ^3H -Thymidineinbau von in vitro kultivierten humanen Chondrozyten (N=3)
10 nach 48 h Inkubationszeit. Jeder Messwert ist der Mittelwert von 8 Einzelmessungen.

Beispiel 2:

15 **Beeinflussung der Proliferation humaner Chondrozyten durch Lidocain**

Herstellung:

Lidocainhydrochlorid (Universitätsapotheke der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) lag primär
20 in Pulverform vor. Dieses wurde in entsprechender Menge in RPMI-Medium (Seromed, Berlin) gelöst, so daß eine Endkonzentration von 0,1 mmol/l Lidocain vorlag. Anschließend erfolgte die Sterilfiltration. Die Substanzzugabe zur Zellkultur erfolgte ab dem 2. Kultur-
25 tag bei jedem Mediumwechsel. Hier wurden entsprechende Mengen der Testsubstanzen (Stammlösungen) zugegeben, so daß eine jeweilige Endkonzentration von 5×10^{-5} mmol/l erreicht wurde.

30

Präparation des biologischen Materials

Die Präparation des Knorpelgewebes und der daraus isolierten Chondrozyten erfolgte analog den in Beispiel 1 dargestellten Methoden.

35

Versuchsbedingungen:

Die isolierten Chondrozyten wurden in 24-er well
Platten in RPMI-Medium (Seromed, Berlin) unter Zusatz
verschiedener Antibiotika bei 37°C und 5% Kohlendi-
oxid im Brutschrank als Monolayerkultur kultiviert.
Der Mediumwechsel erfolgte alle 2 Tage. Ab dem ersten
Mediumwechsel erfolgte die Zugabe des Lidocains im
Zellkulturmedium in einer Konzentration 0,1 mmol/l.
Zusätzlich wurde jeweils eine unbehandelte Chondrozy-
tenpopulation als Kontrolle mitgeführt. Die Kultur-
dauer betrug 6, 12 bzw. 18 Tage.

Versuchsdurchführung:

Die Messung des ^3H -Thymidineinbaus als Maß für die
DNA-Syntheseleistung erfolgte am jeweiligen Ende der
Kulturdauer analog dem im Beispiel 1 dargestellten
Verfahren. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in
Fig. 2 dargestellt.

Fig. 2 zeigt den Einfluß von Lidocain (0,1 mmol/l)
auf den ^3H -Thymidineinbau von in vitro kultivierten
humanen Chondrozyten (N=6). Substanzzugabe am 2. Kul-
turtag. Jeder Messwert ist der Mittelwert von 8 Ein-
zelmessungen

Beispiel 3

Die optimale Bindung des Lokalanästhetikums bzw. der
Lokalanästhetika oder den Derivaten dieser Verbindun-
gen an Hyaluronsäure und/oder den physiologisch ver-
träglichen Salzen der Hyaluronsäure sowie von Spalt-
produkten dieser Verbindungen am Beispiel des Lido-
cains.

Tabelle 1 zeigt nachfolgend den Anteil an freiem Lidocain bei unterschiedlichen Lidocainkonzentrationen (Konz. Hyaluronsäure=0,05%)

Konz. Lidocain [%]		0,025	0,05	0,01	0,2	0,3	0,4	0,5
Freies Lidocain [%]	pH 6,9	54	55	70	71	87	89	93
	pH 7,9	34	81	79	82	89	91	105

5

Experimentelle Bedingungen:

3D CE system der Fa. Hewlett Packard mit fused silica
 Kapillare 40,0 (48,5) cm mit Innendurchmesser 50 µm,
 Temp.: 25°C, Druckinjektion: 50 mbar x sec,
 Spannung: +30 kV, UV-Detektion: kathodenseitig bei
 λ = 195 nm und 200 nm, Injektionszeit: 200 sec.
 Durch die Injektionszeit wurden 7,5 cm der Kapillare
 mit der Probe gefüllt, um eine optimale Trennung der
 Peaks zu erreichen.

15

Anhand der elektrophoretischen Frontalanalyse konnte
 gezeigt werden, daß eine Wechselwirkung zwischen Hyaluronsäure (Hys) und Lidocain auftritt. Wenn gleiche
 prozentuale Anteile von Hys und Lidocain bzw. wenn
 prozentual weniger Lidocain als Hys vorliegt, wird
 der größte Anteil an Lidocain an Hys gebunden. Der
 Mechanismus der Wechselwirkung beruht auf einer Einlagerung des Lidocains in die helixartigen Knäuel der
 Hys, da auch bei pH-Wert 7,9, wenn Lidocain zur Hälfte
 undissoziiert vorliegt (pKs-Wert = 7,9 in Anwesenheit von Hys). Ausserdem sind ionische Bindungen an

20

25

der Wechselwirkung beteiligt, da bei pH 6,9, wenn Lidocain vollständig dissoziiert vorliegt, weniger freies Lidocain detektiert werden konnte (außer bei einer Lidocainkonz. = 0,025%).

5

Beispiel 4

Retardierte Freisetzung des Lokalanästhetikums bzw. der Lokalanästhetika oder den Derivaten dieser Verbindung aus Formulierungen, die Hyaluronsäure und/oder den physiologisch verträglichen Salzen der Hyaluronsäure sowie von Spaltprodukten dieser Verbindungen enthalten, am Beispiel des Lidocains.

Tabelle 2 zeigt nachfolgend den Flux des Lidocains durch eine Dialysemembran mit und ohne Hyaluronsäure (Hys) im Donorkompartiment

pH-Wert		3,1	6,0	6,5	6,9	7,7	9,0
Flux [mg h ⁻¹ cm ⁻²]	Lidocain	0,32	0,355	0,315	0,42	0,35	0,09
	Lidocain + Hys	0,27	0,256	0,234	0,27	0,23	0,04
Differenz [%] Flux _{Lidocain} - Flux _{Lidocain+Hys}		15,6	27,8	25,8	35,7	34,3	55,6

20

Experimentelle Bedingungen:

Diffusionszelle mit Diffusionsfläche (A) = 15,9 cm³ und einer Natrium-Cellulose-Xanthogenat-

(Nephrophan)Dialyse Membran, Volumen (V) des Donor-

25

(DK) und des Akzeptorkompartiments (AK) = 20 ml, Diffusionszeit = 4 h, Temp.: 37°C, Konzentration der Hys im Donorkompartiment = 0,25% und die Anfangskonzentration des Lidocains im Donorkompartiment = 0,05%.

Berechnung des Fluxes:

$$\text{Flux} = \frac{C_{AK} V_{AK}}{A t}$$

Dabei sind:

C_{AK} = Konzentration des Lidocains im AK und

t = Diffusionszeit.

10

15

20

25

30

35

Anhand der Resultate, die in der Dialysezelle erhalten wurden, zeigte sich, daß der Flux des Lidocains durch diese Porenmembran bei Anwesenheit der Hys im Donorkompartiment erheblich reduziert wurde. Am stärksten ausgeprägt ist der Effekt bei pH = 9,0, dort liegt Lidocain weitgehend undissoziiert vor. Dies bestätigt die Resultate, die in Beispiel 3 beschrieben wurden, daß der Mechanismus der Wechselwirkung zwischen Lidocain und Hys auf einer Einlagerung des Lidocains in die helixartigen Knäuel der Hys beruht. Aber auch bei pH-Werten zwischen 6,9 und 7,7 ist eine starke Reduzierung des Lidocainfluxes zu beobachten. Das bestätigt, daß auch ionogene Bindungen and der Interaktion zwischen Lidocain und Hys beteiligt sind. Verschiebt man den pH-Wert in den sauren Bereich z.B. nach pH = 3,1, dort liegt die Hys weitgehend undissoziiert vor, wird der Lidocainflux weniger stark reduziert. Das zeigt deutlich, daß auch ionogene Bindungen an der Wechselwirkung beteiligt sind.

Insgesamt kann festgestellt werden, daß ein starker Retardeffekt hinsichtlich der Freisetzung des Lidocains aus dem Lidocain-Hys-Komplex erzielt werden kann. Dadurch kann die Wirkung des Lidocains in biologischen Systemen (z.B. im Kniegelenk) erheblich verlängert werden.

Patentansprüche

1. Kombinationspräparat bestehend aus mindestens einem Wirkstoff A aus der Gruppe Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukten, mindestens einem Wirkstoff B aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivaten sowie gegebenenfalls weiteren Zusatzstoffen.
5
2. Kombinationspräparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Wirkstoffe A und B chemisch oder physikalisch aneinander gebunden sind, und dass Wirkstoff B retardiert freisetzbar ist.
10
3. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff A in einer Konzentration zwischen 0,001 und 5 Gew.-%, bevorzugt zwischen 0,2 und 2 Gew.-% enthalten ist.
15
4. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff B in einer Konzentration zwischen 0,001 und 20 Gew.-%, bevorzugt zwischen 0,001 und 5,0 Gew.-% enthalten ist.
20
5. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Substanzen mit Radikalfängereigenschaften, insbe-
25
- 30

sondere Tocopherolderivate und/oder Ascorbinsäurederivate, enthalten sind.

- 5 6. Kombinationspräparat nach mindestens einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Sub-
stanzen des hyalinen Knorpelgewebes, insbesonde-
re Glucosaminsulfatderivate und/oder Chondroi-
tinsulfatderivate, enthalten sind.
- 10 7. Kombinationspräparat nach mindestens einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Sub-
stanzen mit steroidaler oder corticosteroidaler
15 Wirkung, insbesondere Glucocorticoide, enthalten
sind.
- 20 8. Kombinationspräparat nach mindestens einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff
nichtsteroidaler Antiphlogistika, insbesondere
Indometacin, Dichlorphenac oder Salicylsäurede-
rivate, enthalten sind.
- 25 9. Kombinationspräparat nach mindestens einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff A-
nalgetika, insbesondere Oxicame, Anilin- oder
Anthranilsäurederivate, enthalten sind.
- 30 10. Kombinationspräparat nach mindestens einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Sub-

stanzen mit hemmender Wirkung auf die Prostaglandinsynthese, insbesondere Lipoxigenasehemmer, Cyclooxygenasehemmer und Phospholipase-A2-Hemmer, enthalten sind.

5

11. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Wachstumsfaktoren, insbesondere Retinol oder Bone Morphogenetic Proteins (BMP's), enthalten sind.

10

12. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Vitamine, insbesondere Vitamin A, C, B12 oder Biotin, enthalten sind.

15

13. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Antioxydantien, insbesondere Flavonoide oder Glutathion, enthalten sind.

20

14. Kombinationspräparat nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Zusatzstoff Substanzen mit wasserbindenden Eigenschaften, insbesondere Harnstoff oder Arginin, enthalten sind.

25

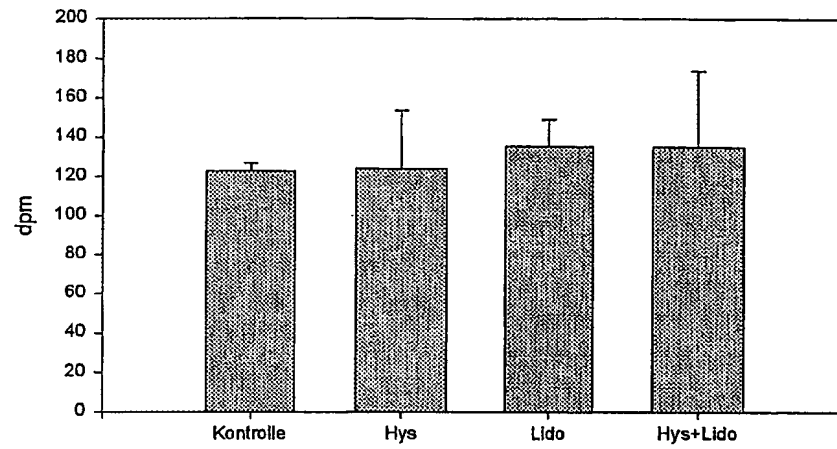
30

15. Verwendung von Hyaluronsäure, deren Salzen und Spaltprodukte in Kombination mit mindestens ei-

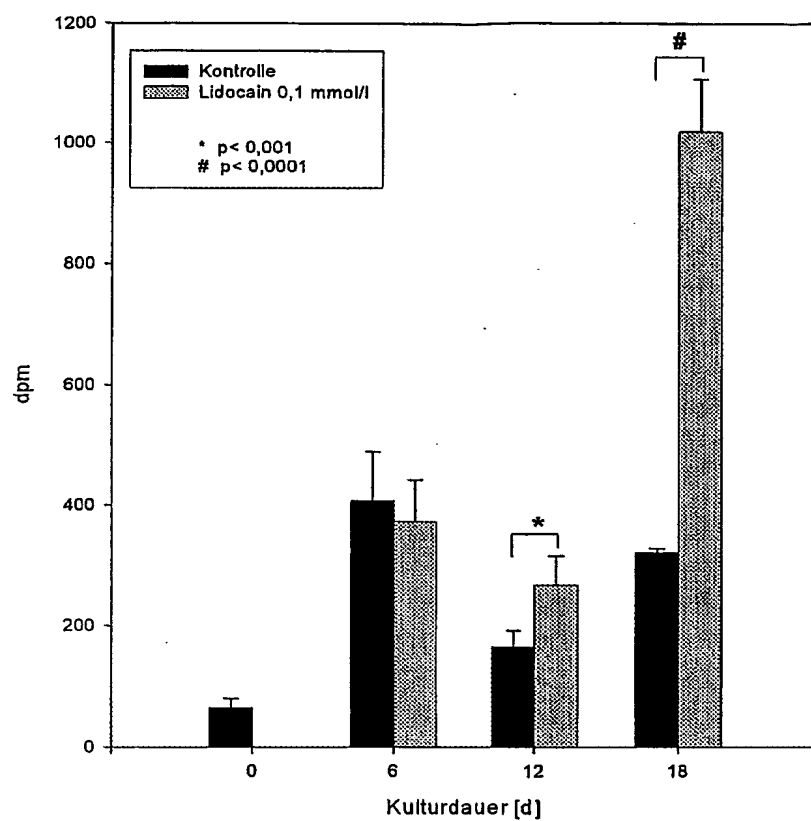
- 5 nem Wirkstoff aus der Gruppe der Lokalanästhetika und deren Derivate zur Herstellung eines Arzneimittels zur human- und veterinärmedizinischen Therapie, Prophylaxe und/oder Metaphylaxe von degenerativen oder traumatischen Gelenkerkrankungen und Gelenkfunktionsstörungen.
- 10 16. Verwendung nach Anspruch 15 zur human- und veterinärmedizinischen Therapie, Prophylaxe und/oder Metaphylaxe von Gelenkknorpel- und Knorpelknochendefekten.
- 15 17. Verwendung nach Anspruch 15 zur human- und veterinärmedizinischen Therapie, Prophylaxe und/oder Metaphylaxe von Meniskus- und Bandscheibenerkrankungen.
- 20 18. Verwendung nach Anspruch 15 zur Steigerung der Chondrozytenproliferation.
19. Verwendung nach Anspruch 15 zur Stabilisierung und/oder Regeneration von Gelenkstrukturen, insbesondere des Gelenkknorpels und des Meniskus.
- 25 20. Verwendung nach Anspruch 15 zur Steigerung der Gelenkbeweglichkeit.
- 30 21. Verwendung nach Anspruch 15 zur Hemmung von Entzündungsprozessen.

22. Verwendung nach Anspruch 15 zur Behandlung von
Haut- bzw. Schleimhautveränderungen.

Figur 1



Figur 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/10822

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/728 A61P19/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 224 857 B1 (SILVESTRINI BRUNO ET AL) 1 May 2001 (2001-05-01) column 3, line 23,24; claim 1 -----	1-22
X	US 5 972 326 A (SALAMONE JOSEPH C ET AL) 26 October 1999 (1999-10-26) column 11, line 6-9 column 9, line 2-37; claims 1,4,7,9 -----	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 January 2004

Date of mailing of the international search report

06/02/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Beys, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/10822

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6224857	B1	01-05-2001	IT PD960254 A1 17-04-1998
			AU 712927 B2 18-11-1999
			AU 4470097 A 15-05-1998
			BR 9713486 A 11-04-2000
			CA 2268967 A1 30-04-1998
			EP 0956026 A1 17-11-1999
			JP 2001503042 T 06-03-2001
			WO 9817285 A1 30-04-1998
			KR 2000049281 A 25-07-2000
			PL 332873 A1 25-10-1999
			TR 9900860 T2 21-06-1999
US 5972326	A	26-10-1999	US 5759532 A 02-06-1998
			US 5612027 A 18-03-1997
			AU 6471698 A 12-10-1998
			BG 103806 A 28-04-2000
			BR 9808282 A 16-05-2000
			CN 1251979 T 03-05-2000
			EA 2004 B1 22-10-2001
			EE 9900413 A 17-04-2000
			EP 1027015 A1 16-08-2000
			HU 0001818 A2 28-10-2000
			ID 23917 A 25-05-2000
			JP 2001516258 T 25-09-2001
			NO 994485 A 16-11-1999
			NZ 337654 A 27-04-2001
			PL 335801 A1 22-05-2000
			SK 127099 A3 11-07-2000
			TR 9902253 T2 21-12-1999
			WO 9841171 A1 24-09-1998
			AP 850 A 14-06-2000
			AU 707013 B2 01-07-1999
			AU 5555796 A 07-11-1996
			BG 62598 B1 31-03-2000
			BG 101960 A 30-04-1998
			BR 9608441 A 17-02-1999
			CA 2216417 A1 24-10-1996
			CN 1181703 A 13-05-1998
			CZ 9703264 A3 16-09-1998
			DE 822822 T1 03-09-1998
			EA 790 B1 24-04-2000
			EE 9700286 A 15-06-1998
			EP 0822822 A1 11-02-1998
			ES 2116950 T1 01-08-1998
			HU 9802665 A2 28-06-1999
			JP 3314085 B2 12-08-2002
			JP 10510293 T 06-10-1998
			NO 974808 A 15-12-1997
			NZ 306875 A 29-06-1999
			OA 10744 A 11-12-2002
			PL 322820 A1 16-02-1998
			SK 140297 A3 11-01-1999
			TR 9701192 T1 21-02-1998
			WO 9632951 A1 24-10-1996
			US 5766580 A 16-06-1998
			US 5965152 A 12-10-1999

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/10822

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K31/728 A61P19/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	US 6 224 857 B1 (SILVESTRINI BRUNO ET AL) 1. Mai 2001 (2001-05-01) Spalte 3, Zeile 23,24; Anspruch 1	1-22
X	US 5 972 326 A (SALAMONE JOSEPH C ET AL) 26. Oktober 1999 (1999-10-26) Spalte 11, Zeile 6-9 Spalte 9, Zeile 2-37; Ansprüche 1,4,7,9	1-14

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *I* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

30. Januar 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

06/02/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Beyss, E

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Kennzeichen

PCT/EP 03/10822

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6224857	B1	01-05-2001	IT PD960254 A1 17-04-1998
			AU 712927 B2 18-11-1999
			AU 4470097 A 15-05-1998
			BR 9713486 A 11-04-2000
			CA 2268967 A1 30-04-1998
			EP 0956026 A1 17-11-1999
			JP 2001503042 T 06-03-2001
			WO 9817285 A1 30-04-1998
			KR 2000049281 A 25-07-2000
			PL 332873 A1 25-10-1999
			TR 9900860 T2 21-06-1999
US 5972326	A	26-10-1999	US 5759532 A 02-06-1998
			US 5612027 A 18-03-1997
			AU 6471698 A 12-10-1998
			BG 103806 A 28-04-2000
			BR 9808282 A 16-05-2000
			CN 1251979 T 03-05-2000
			EA 2004 B1 22-10-2001
			EE 9900413 A 17-04-2000
			EP 1027015 A1 16-08-2000
			HU 0001818 A2 28-10-2000
			ID 23917 A 25-05-2000
			JP 2001516258 T 25-09-2001
			NO 994485 A 16-11-1999
			NZ 337654 A 27-04-2001
			PL 335801 A1 22-05-2000
			SK 127099 A3 11-07-2000
			TR 9902253 T2 21-12-1999
			WO 9841171 A1 24-09-1998
			AP 850 A 14-06-2000
			AU 707013 B2 01-07-1999
			AU 5555796 A 07-11-1996
			BG 62598 B1 31-03-2000
			BG 101960 A 30-04-1998
			BR 9608441 A 17-02-1999
			CA 2216417 A1 24-10-1996
			CN 1181703 A 13-05-1998
			CZ 9703264 A3 16-09-1998
			DE 822822 T1 03-09-1998
			EA 790 B1 24-04-2000
			EE 9700286 A 15-06-1998
			EP 0822822 A1 11-02-1998
			ES 2116950 T1 01-08-1998
			HU 9802665 A2 28-06-1999
			JP 3314085 B2 12-08-2002
			JP 10510293 T 06-10-1998
			NO 974808 A 15-12-1997
			NZ 306875 A 29-06-1999
			OA 10744 A 11-12-2002
			PL 322820 A1 16-02-1998
			SK 140297 A3 11-01-1999
			TR 9701192 T1 21-02-1998
			WO 9632951 A1 24-10-1996
			US 5766580 A 16-06-1998
			US 5965152 A 12-10-1999

Formblatt PCT/ISA/210 (Anhang Patentfamilie) (Juli 1992)

BEST AVAILABLE COPY